

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**Dilatadores hormonais cervicais utilizados na inseminação
artificial transcervical em substituição a inseminação artificial
laparoscópica na espécie ovina**

BIANOR MATIAS CARDOSO NETO

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

MARÇO - 2012

**Dilatadores hormonais cervicais utilizados na inseminação
artificial transcervical em substituição a inseminação artificial
laparoscópica na espécie ovina**

BIANOR MATIAS CARDOSO NETO

Médico Veterinário

Universidade Federal da Bahia, 2009.2

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Dra Larissa Pires Barbosa

Co-Orientadora: Dra. Adriana Regina Bagaldo

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

MARÇO - 2012

FICHA CATALOGRÁFICA

C268 Cardoso Neto, Bianor Matias.

Dilatadores hormonais cervicais utilizados na inseminação artificial transcervical em substituição a inseminação artificial laparoscópica na espécie ovina / Bianor Matias Cardoso Neto. _.
Cruz das Almas, BA, 2012.

55f. il.

Orientadora: Larissa Pires Barbosa.

Coorientadora: Adriana Regina Bagaldo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
BIANOR MATIAS CARDOSO NETO**

Profa. Dra. Larissa Pires Barbosa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientadora)

Profa. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Dr. Lincoln da Silva Amorim
Universidade Federal de Viçosa

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MARÇO – 2012**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que participaram de sua execução, principalmente aos estagiários que foram imprescindíveis neste caminhar, pelos momentos partilhados sem esmorecimento. À professora Larissa Pires Barbosa, minha orientadora, verdadeiramente a maior mestra que tive. À Patrícia Dutra que compartilhou comigo estes momentos de apredizado, rimos, choramos e vencemos!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro à DEUS, que esteve sempre ao meu lado, mesmo nos momentos em que me sentia sozinho e achava que tudo ia dar errado, em seguida tudo se acalmava e não passava de um aprendizado para o meu crescimento;

Aos meus pais, MANINHO E NILZA, pelo amor incondicional e por serem meu alicerce;

Aos meus irmãos, NILSON e DAVI, pelo apoio e ombro amigo;

Às minhas TIAS e TIOS, pelas palavras de incentivo e preocupações com o meu futuro;

Aos meus AVÓS, que me aconselharam a ser correto e honesto;

Às minhas primas, em especial a ROSE, que sempre me incentivou;

À dona CICA pelo incentivo e preocupação de mãe;

À minha orientadora, LARISSA, por ser essa mãe tão sabia, que elogia, orienta e pucha a orelha, sempre querendo o melhor para as suas crias, conduzindo pelo caminho certo;

À minha namorada, Claudinéia, por me fazer tão feliz, apoiar e incentivar o início da minha vida profissional, obrigado por tudo MEU BEM;

À todos da REPÚBLICA DO BODE, que me acolheram desde o primeiro momento, obrigado pelas risadas, conversas e cachaças noite a fora;

À ANINHA, por ser essa pessoa que consegue ajudar a todos nos momentos ruins e bons, e mesmo com os outros desanimados, ela está lá para nos animar e conseguir a melhor solução;

À PATRICIA ALVES DUTRA, pelo companheirismo, dedicação, ajuda e incentivo durante todo o mestrado;

À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA (UFRB), pelo acolhimento durante o mestrado;

Aos estagiários da UFRB, MONNA, MARIANA, RAÍSA, VINÍCIUS, JOELMO, MÁRCIO “BIG”, ANDERSON “CEBOLA”, que me ajudaram na organização, na execução e coleta dos dados experimentais;

Ao Médico Veterinário, CARMO BISCARDE, pelo apoio e ensinamentos;

Aos queridos professores, Drs. da SALA 9A, JAIR, EVANI, ALEXANDRE E ANA MARIA, por valorizar a convivência e pelos conselhos;

À Profa. Msc. CRISTIANE AGUIAR e Med. Vet. ROSILÉIA SOUZA, pela grande contribuição durante o período experimental;

À Profa. Dra. MEIBY CARNEIRO, pelas orientações e esclarecimentos durante a execução da análise estatística dos dados.

À FAPESB, pelo financiamento da bolsa de mestrado, concedida nesse período de muito trabalho

Muito Obrigado!

“O sucesso nasce do querer. Sempre que o homem aplicar a determinação e a persistência para um objetivo, ele vencerá os obstáculos, e se não atingir o alvo, pelo menos fará coisas admiráveis”

José Martiniano de Alencar

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Panorama da Ovinocultura no Brasil	14
2.2. Métodos de Inseminação Artificial na Espécie Ovina	16
2.2.1. Anatomia e Fisiologia Cervical da Ovelha	16
2.2.2. Inseminação Artificial por Laparoscopia	18
2.2.3. Inseminação Artificial Transcervical e o Uso de Dilatadores Cervicais	19
2.3. Métodos de Inseminação Artificial e Estresse	21
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
4. CAPÍTULO 1: Alternativas para viabilizar a técnica de inseminação artificial transcervical na espécie ovina.....	34
4.1. Resumo	35
4.2. Introdução	36
4.3. Material e Métodos	37
4.4. Resultados e Discussão	41
4.5. Conclusões	50
4.6. Referências	51
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	55

DILATADORES HORMONAIS CERVICAIS UTILIZADOS NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL TRANSCERVICAL EM SUBSTITUIÇÃO A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL LAPAROSCÓPICA NA ESPÉCIE OVINA

Autor: Bianor Matias Cardoso Neto

Orientadora: Dra. Larissa Pires Barbosa

RESUMO: O estudo teve como objetivo avaliar alternativas para viabilizar a técnica de inseminação artificial (IA) transcervical na espécie ovina. Foram utilizadas 114 ovelhas Santa Inês distribuídas em cinco grupos (G), sendo: G1 - IA transcervical sem utilização de dilatador cervical (n=23); G2 - IA transcervical com aplicação de 500UI de ocitocina, 11h antes da IA, por via intramuscular (IM) (n=23); G3 - IA transcervical com aplicação de 1mg de estrógeno, 11h antes da IA, IM (n=22); G4 - IA transcervical com aplicação de 0,0375mg de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), 11h antes da IA, IM (n= 23) e G5 - IA por laparoscopia (n=23). As fêmeas tiveram seus estros sincronizados utilizando esponjas intravaginais com acetato de medroxiprogesterona durante seis dias e foram inseminadas 50h após a retirada das esponjas, com sêmen fresco diluído. Houve diferença no tempo gasto para realização da IA (P<0,05), sendo menor para o grupo inseminado por laparoscopia, com média de 4`13``, comparado aos demais grupos 1, 2, 3 e 4, com duração de 5`54``; 5`37``; 5`37`` e 5`27``, respectivamente. A taxa de gestação para o grupo inseminado por laparoscopia foi de 68,18%, superior (P<0,05) aos grupos 1, 2, 3 e 4, que apresentaram taxa de gestação de 30,4%; 8,6%, 0,0% e 13,0%, respectivamente. Não houve diferença para concentração plasmática de cortisol entre os grupos após a inseminação, com média entre os grupos de 29,95 ng/mL. A inseminação por laparoscopia foi o método mais eficiente por apresentar maior taxa de gestação, maior rapidez e com mesmo nível de indução de estresse, do que as inseminações transcervicais.

Palavras-chave: taxa de gestação, ocitocina, prostaglandina, estradiol, Santa Inês

CERVICAL DILATORS HORMONE USED IN ARTIFICIAL INSEMINATION TRANSCERVICAL LIEU OF ARTIFICIAL BREEDING SHEEP IN LAPAROSCOPIC

Author: Bianor Matias Cardoso Neto

Advisor: Dr. Larissa Barbosa Pires

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate alternatives to perform transcervical artificial insemination (AI) in ovine. A total of 114 ewes were divided in five groups (G) as follows: G1- transcervical AI without cervical dilator (n=23); G2- transcervical with application of 500UI of oxytocin intramuscular (IM) (n=23); G3- transcervical AI with application of 1 mg of estrogen IM (n=22); G4- transcervical AI with application of 0.0375mg of prostaglandin F₂α (PGF₂α) MI (n=23) and G5- AI by laparoscopy (n=23). Estrus was synchronized using intravaginal sponges with medroxyprogesteron acetate for six days and insemination was performed 50 h after sponge withdrawal with fresh diluted semen. AI (P<0.05) was performed in less time in Group 5 using laparoscopy (average of 4`13``) compared to Groups 1, 2, 3 and 4 (duration of 5`54``; 5`37``; 5`37`` and 5`27``, respectively). Pregnancy rate for Group 5 was 68.18%, which was higher (P<0.05) than the results observed for groups 1, 2, 3, and 4 (30.4%, 8.6%, 0.0% and 13.0%, respectively). There was no difference in cortisol plasma concentration among the groups after insemination, with an average of 29.95 ng/ml. Insemination by laparoscopy was the most efficient method for presenting higher pregnancy rate, faster and without variation of stress than transcervical inseminations.

Keywords: pregnancy rate, oxytocin, prostaglandins, estradiol, Santa Ines

1. INTRODUÇÃO

A região Nordeste detém o maior contingente do rebanho ovino do Brasil, equivalente a 56,9%. A Bahia, o estado com o segundo maior rebanho nacional, apresenta um efetivo de 3.028.507 animais (IBGE, 2009). No entanto, a maioria dos animais criados nessa região apresenta baixa produtividade, devido entre outros fatores, à limitação genética. Neste sentido, a inseminação artificial (IA) se constitui em um instrumento para auxiliar promoção rápida do melhoramento genético desses animais (Cardoso et al., 2009), comparando com a monta natural.

Na espécie ovina, devido às características anatômicas da cérvix, apresentando anéis tortuosos e reduzido diâmetro de orifício (Kershaw et al., 2005), a inseminação artificial intrauterina por laparoscopia é a principal técnica utilizada (Killen; Caffery, 1982; Ghalsasi; Nimbkar, 1996). Esta, contudo, apresenta várias limitações, por se tratar de um procedimento cirúrgico e exigir a utilização de equipamentos de alto custo e mão-de-obra especializada, sendo economicamente inviável na maioria das propriedades de criação ovina (Evans; Maxwell, 1987).

Como alternativa para a realização de IA em ovinos, utiliza-se a técnica por via transcervical, que por se tratar de um método não cirúrgico, apresenta menor custos (Rabassa et al., 2007) em comparação à técnica laparoscópica. Contudo, a menor abertura do canal cervical no momento do estro impede ou dificulta a sua transposição, condicionando a deposição do sêmen no fundo do canal vaginal ou no orifício cervical externo (Halbert et al., 1990a; Campbell et al., 1996; Kaabi et al., 2001), onde só são alcançadas taxas de gestação aceitáveis à custa de uma

maior concentração espermática da dose inseminante (400-600 milhões/mL) ou por meio de dupla inseminação (Barbas et al., 2001).

Em razão da passagem do aplicador pela cérvix ser o principal entrave para realização de inseminação artificial transcervical na espécie ovina, algumas substâncias têm sido utilizadas com o objetivo de promover o relaxamento e abertura cervical, como os hormônios, relaxina, ocitocina e as prostaglandinas, entre outros (Santos et al., 2009).

Desta forma, objetivou-se avaliar alternativas para viabilizar a técnica de IA transcervical na espécie ovina, por meio da taxa de gestação, praticidade e estresse causado pelas técnicas utilizadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Panorama da Ovinocultura no Brasil

A ovinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes, está presente em áreas sob as mais diversas características climáticas, edáficas e botânicas. No entanto, somente em alguns países a atividade apresenta expressão econômica, sendo, na maioria dos casos, desenvolvida de forma empírica e extensiva, com baixos níveis empregados de tecnologia (Vidal et al., 2006).

O rebanho nacional ovino é de 16.812.105 cabeças, as quais estão distribuídas por todas as regiões do país, porém com maior concentração na região Nordeste, que possui um efetivo de 9.566.776 animais, representando 56,9% do rebanho brasileiro (IBGE, 2009), sendo o Brasil o 18º colocado na produção de carne ovina no mundo (FAO, 2007).

Devido ao aumento da demanda de carne nos países em desenvolvimento, que vem sendo impulsionada pelo crescimento demográfico, pela urbanização e pelas variações das preferências e dos hábitos alimentares dos consumidores (FAO, 2007), estima-se um crescimento anual de 2,1% na produção de carne ovina durante o período de 2005 a 2014, registrando-se essa elevação principalmente em países em desenvolvimento (Viana, 2008).

A ovinocultura apresenta-se, desta forma, como uma importante atividade econômica do semiárido nordestino, caracterizando-se como uma das principais áreas de vocação ao desenvolvimento da ovinocultura de corte no Brasil (Silva et

al., 2010). No entanto, a maioria dos animais criados nessa região apresenta baixa produtividade, devido entre outros fatores, à limitação genética (Cardoso et al., 2009).

Esse baixo potencial genético dos rebanhos, associado à escassez de forragem na estação seca, às práticas de manejo inadequadas, às más condições sanitárias, às limitações zootécnicas e de assistência técnica, além das deficiências de mercado, concorre para os baixos índices de produtividade e de rentabilidade da ovinocultura no Nordeste brasileiro (Vidal et al., 2006).

Das raças ovinas de corte criadas no país, destaca-se a Santa Inês, uma raça deslanada, oriunda do Nordeste brasileiro. Essa raça vem adquirindo grande importância na ovinocultura atual, sendo utilizado tanto animais puros, quanto para cruzamento industrial (Silva, 2008). A alta prolificidade e o fato de que, na região Nordeste, ovelhas deslanadas são poliéstricas contínuas e os reprodutores produzem sêmen de boa qualidade durante todo o ano, favorece a obtenção de elevada eficiência produtiva e reprodutiva dos rebanhos (Barros et al., 2005).

Nos sistemas brasileiros de produção em escala, a baixa produtividade dos rebanhos, a menor precocidade do animal ao abate, a baixa qualidade do produto final e a baixa eficiência reprodutiva são entraves para uma maior rentabilidade e conseqüentemente um crescimento ainda maior deste segmento do agronegócio (Bicudo et al., 2003). Nesse sentido, a reprodução destaca-se como o mais básico dos fatores que influenciam a eficiência econômica do sistema de produção animal, sem a qual não há geração de produtos. Assim, quanto mais eficiente for o desempenho reprodutivo, maior será a possibilidade de retorno econômico positivo para a atividade segundo Martinez et al. (2004) em estudo com bovinos.

A intensificação do manejo reprodutivo e o melhoramento genético constituem etapas fundamentais para a expansão da ovinocultura de forma competitiva, sendo os programas de reprodução assistida e o uso de biotecnologias ferramentas otimizadoras do processo (Bicudo et al., 2003).

2.2. Métodos de Inseminação Artificial na Espécie Ovina

A inseminação artificial é considerada a biotécnia da reprodução mais importante e mais utilizada para o melhoramento genético das espécies, devido a machos selecionados produzirem espermatozóides para a inseminação de centenas de fêmeas por ano, quando comparado à monta natural (Ax et al., 2004).

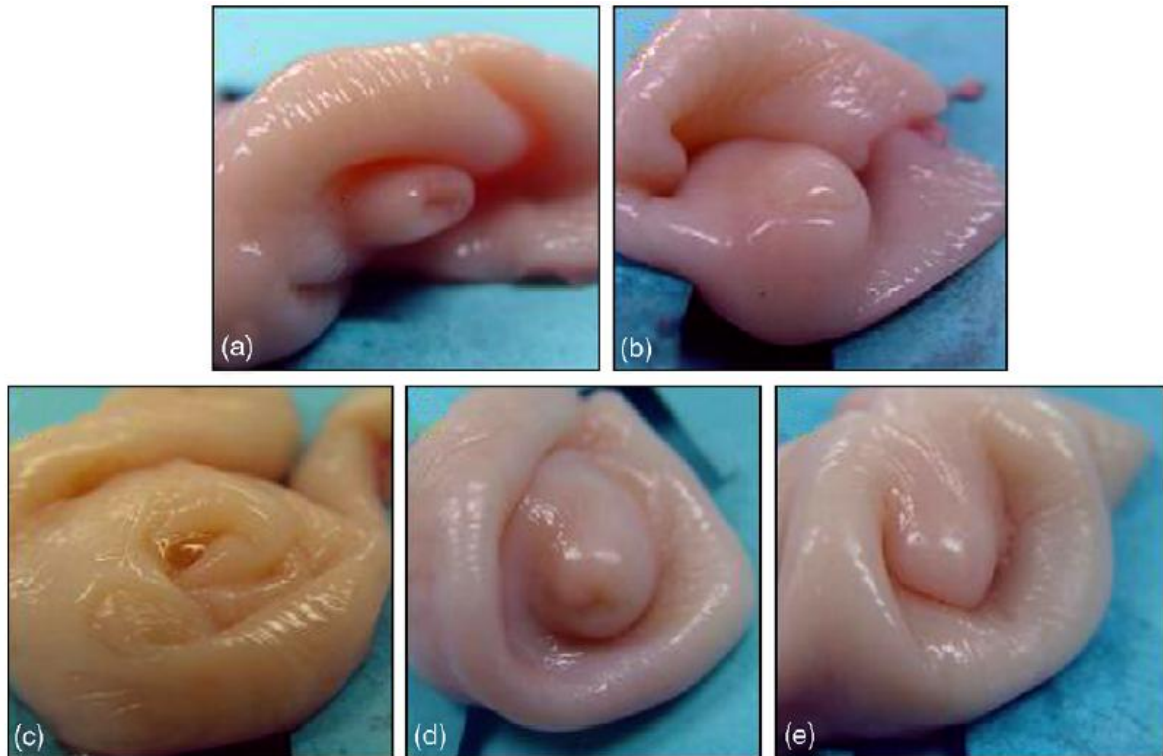
Em ovinos, a inseminação artificial pode ser realizada pelo método vaginal (Anel et al., 2005; Paulenz et al., 2005), transcervical (Aral et al., 2010; Santos et al., 2009; Monreal et al., 2008) e laparoscópico (Sanchez-Partida et al., 1999; Cardoso et al., 2009).

2.2.1. Anatomia e Fisiologia Cervical da Ovelha

A cérvix da ovelha é uma estrutura complexa e consistente, que se estreita à medida que se aproxima do lúmen uterino, apresenta de 3 a 7 anéis (Kershaw et al., 2005; Naqvi et al., 2005), que se dispõem excentricamente e lhe conferem uma interdigitação entre os anéis das pregas cervicais (Moura et al., 2011), de difícil acesso, que dificulta ou inviabiliza sua transposição (Halbert et al., 1990c; Kershaw et al., 2005; Anel et al., 2006; Gusmão et al., 2009). Além disso, o segundo anel cervical é geralmente desalinhado em relação aos outros (Moré et al., 1984; Naqvi et al., 2005; Leethongdee et al., 2007), podendo bloquear a progressão do cateter de IA através da cérvix.

O comprimento médio do canal cervical tem entre 5,5 e 6,7 cm (Fukui et al., 1978; Moré et al., 1984; Halbert et al., 1990c). A cérvix de ovelhas de dois anos são mais curtas e mais estreitas, e apresentam mais dobras cervicais do que ovelhas mais velhas (Kaabi et al., 2006). Em ovelhas da raça Santa Inês foi relatada a ocorrência de 100% de formações de fundo de saco cego nos dois primeiros anéis cervicais, o que acaba por funcionar como uma barreira adicional à transposição da mesma (Cruz Jr., 2006). A porção caudal da cérvix possui

formato de bico de pato, *flap*, roseta, espiral, óstio e fenda (Silva et al., 2004; Halbert et al., 1990c e Kershaw et al., 2005).



(a) Bico de pato, (b) Aspiral, (c) Roseta, (d) Ostio e (e) flap (Kershaw et al., 2005)

Além das dificuldades anatômicas da cérvix, as dobras do canal vaginal criam espaços cegos, dificultando ainda mais a visualização da entrada cervical (Halbert et al., 1990c), criando um obstáculo à passagem de instrumentos que permitem o acesso ao útero pela via transcervical, dificultando a inseminação artificial e a coleta de embriões (Gusmão et al., 2009).

A dilatação cervical se dá naturalmente no período estral, em um momento em que a concentração plasmática de progesterona está baixa e a de estradiol- 17β e ocitocina estão elevadas (Challis et al., 1983; Leethongdee, 2010). Essa dilatação requer uma reorganização do colágeno do estroma cervical (fibroblastos e músculo liso), com a mudança de um estrutura altamente organizada das fibrilas, que estão fortemente ligadas, sob a influência de elevados níveis de progesterona, para um arranjo muito frouxo em estro sob influência do estradiol- 17β (Uldbjerg et al., 1983; Calder, 1994; Leppert, 1995).

Leethongdee et al. (2007) também relataram que durante a fase folicular, a cérvix de ovelhas não-gestantes permite uma maior profundidade de penetração, indicando que há um grau de relaxamento natural neste momento, possivelmente, como resultado das ações das gonadotrofinas hipofisárias (LH e FSH) e esteróides ovarianos.

2.2.2. Inseminação Artificial por Laparoscopia

A IA intra-uterina em ovinos pode ser realizada por procedimentos cirúrgicos, como a laparoscopia e laparotomia ou com o uso de pinças e pipetas modificadas para penetrar a cérvix (Halbert et al., 1990c; Khalifa et al., 1992; Gusmão et al., 2009).

A via laparoscópica tem sido a principal técnica utilizada para inseminação artificial em ovinos (Kershaw et al., 2005; Leethongdee, 2010). Esta técnica envolve a deposição direta do sêmen nos cornos uterinos, o que geralmente resulta em maiores taxas de prenhez (Halbert et al., 1990b). Sanchez-Partida et al. (1999) relataram que a fertilidade do sêmen criopreservado e descongelado é maior após a inseminação laparoscópica do que após a inseminação transcervical.

As taxas de fertilidade, com deposição intra-uterina pela via laparoscópica, estão em torno de 40% a 75% (Machado et al., 2006; Rabassa et al., 2007; Cardoso et al., 2009; Rojero et al., 2009), mas apesar de resultados satisfatórios, o processo apresenta desvantagens, a principal, é o alto custo devido ao conhecimento técnico especializado, além de poder interferir no bem-estar dos animais (Ivanka et al., 2009; Leethongdee et al., 2010).

Machado et al. (2006), em estudo com ovelhas sem raça definida sincronizadas e inseminadas em tempo fixo com sêmen fresco, por via laparoscópica, obtiveram taxa de prenhez média de 71,8%. Já Rabassa et al. (2007), em estudo com ovelhas Corriedale sincronizadas e inseminadas em

tempo fixo com sêmen criopreservado, por via laparoscópica, obtiveram taxa de prenhez de 40,0%.

Cardoso et al. (2009), em estudo com ovelhas Santa Inês sincronizadas e inseminadas em tempo fixo com sêmen criopreservado, por via laparoscópica, obtiveram taxa de prenhez de 61,7%. Rojero et al. (2009), em estudo com ovelhas Pelibuey sincronizadas e inseminadas com sêmen resfriado, por via laparoscópica, obtiveram 75% de taxa de prenhez.

Visando minimizar as restrições da técnica laparoscópica, técnicas de inseminação transcervical, com deposição intrauterina do sêmen, têm sido amplamente estudadas e aprimoradas (Anel et al., 2006; Santos et al., 2009).

2.2.3. Inseminação Artificial Transcervical e Uso de Dilatadores Hormonais Cervicais

A inseminação transcervical apresenta baixa fertilidade em ovinos, pois a cérvix limita a transposição do cateter de inseminação para o útero, justificando o depósito do sêmen, na maioria dos casos, intravaginal ou no óstio caudal da cérvix (Eppleston et al., 1994; Kershaw et al., 2005). As taxas de fertilidade obtidas por via transcervical estão em torno de 14% a 71% (Rabassa et al., 2007; Monreal et al., 2008; Cardoso et al., 2009; Aral et al., 2010).

Monreal et al. (2008), em estudo com ovelhas mestiças de Texel e Suffolk sincronizadas e inseminadas com sêmen criopreservado, por via transcervical, obtiveram taxa de prenhez média de 71,7%. Resultados semelhantes aos encontrados por Aral et al. (2010), em estudo com ovelhas Awassi sincronizadas e inseminadas pela via transcervical com sêmen fresco e aplicado com pressão de ar, com 70% de taxa de prenhez.

Entretanto, resultados inferiores foram encontrados por Taqueda et al. (2011), em estudo com ovelhas Santa Inês sincronizadas e inseminadas com

sêmen criopreservado, por via transcervical, com taxa de prenhez de 30,3% e aos encontrados por Monreal et al. (2011), em estudo com ovelhas nativas sincronizadas e inseminadas com sêmen criopreservado, por via transcervical, com taxa de prenhez de 25,7%.

Cardoso et al. (2009) em estudo com ovelhas Santa Inês sincronizadas e inseminadas em tempo fixo pela via transcervical com sêmen congelado e com semên fresco obtiveram taxa de prenhez de 14,7 e 58,8%, respectivamente, demonstrando uma influência importante do tipo de processamento do sêmen utilizado.

Muitos estudos encontraram uma correlação positiva entre a profundidade da IA e fertilidade (Eppleston et al., 1994; Windsor et al., 1994 e Barje et al., 1994). O sucesso da transposição da barreira cervical parece depender de vários fatores, como raça, ordem de partos e outros, inerentes ao indivíduo (Sousa, 1999; Almeida et al., 2002).

A tração do primeiro anel cervical, com o auxílio de uma pinça cirúrgica, até exteriorização de seu óstio, é uma prática amplamente adotada, porém o sucesso de transposição ainda é inconsistente (Silva et al. 2005). Campbell et al. (1996) relataram o aparecimento de aderência no canal cervical de ovelhas, dias após a realização da inseminação artificial transcervical e atribuíram esse fato ao tipo de pinça utilizada durante o processo de tracionamento cervical.

Além do tracionamento mecânico da cérvix, estudos vêm testando uma variedade de fármacos para a promoção do seu relaxamento. Como por exemplo, a administração de ocitocina (Khalifa et al., 1992 Wulster-Radcliffe et al., 1999), algumas horas antes da inseminação artificial, para facilitar a transposição cervical, porém promove redução na fertilidade devido a contrações tetânicas uterinas, cuja duração é em função da dose administrada (Sayre e Lewis, 1996). Stellflug et al. (2001) observaram redução da taxa de gestação para animais tratados com ocitocina e inseminados via transcervical de 59% para 47%.

A combinação de ocitocina e estradiol também foi testada como método químico de dilatação cervical e facilitou a penetração cervical (Flohr et al., 1999; Wulster-Radcliffe et al., 1999)

Ivanka et al. (2009) testaram a utilização de Cervidil®¹ (dispositivo vaginal que contém 10mg de dinoprostona) e relataram que é um método eficiente no processo de dilatação cervical melhorando a penetrabilidade no processo de inseminação transcervical e transferência de embriões.

Barbas et al. (2003) demonstraram que a associação de misoprostol (análogo sintético da PGE₁) / sulfato de terbutalina (β -adrenérgico) provocou aumentos significativos na penetrabilidade cervical, 15 minutos após a sua administração (36 e 56 horas após a remoção das esponjas vaginais), notando-se um efeito sinérgico desta associação sobre o relaxamento e a penetrabilidade cervical e sugerindo a confirmação deste efeito em ensaios de campo, sobre os resultados da inseminação artificial.

Outro fator importante a ser considerado é que a manipulação cervical e vaginal em ovelhas pode causar trauma significativo no tecido pélvico, que é doloroso e pode interferir na fertilidade. Como consequência, certas ovelhas, especialmente nulíparas, podem vocalizar, debater-se ou deitar-se durante o procedimento (DeRossi et al., 2009).

2.3. Métodos de Inseminação Artificial e Estresse

Segundo Broom e Johnson (1993) o estresse é a resposta do organismo ao efeito ambiental, sobre um indivíduo que sobrecarrega o seu sistema de controle e envolve aumento de mortalidade, diminuição do crescimento ou insucesso na reprodução.

O estresse também pode ser definido como a reação do organismo do animal a agentes prejudiciais que, geralmente, manifestam-se por alterações comportamentais, associadas ao sistema nervoso autônomo, neuroendócrinas e

adrenocorticais (Maffei, 2009). Segundo Breazile (1988), é importante reconhecer que nem todo estresse é prejudicial, já que sem ele o animal não sobreviveria.

Uma resposta comum ao estresse é a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que resulta em secreções sequenciais de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e arginina-vasopressina, pelo hipotálamo; hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), pela hipófise anterior e glicocorticóides, como o cortisol, pelo córtex da adrenal (Turner et al., 2010).

Hormônios relacionados ao estresse podem influenciar a função sexual em todos os três níveis do eixo Hipotálamo-Hipófise-Gonadal: no hipotálamo, inibindo a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas; na hipófise, interferindo na indução do GnRH para liberação de LH e nas gônadas, alterando o efeito estimulatório das gonadotrofinas na secreção dos esteróides sexuais (River e Rivest, 1991).

Um dos principais indicativos de que o animal está em situação de estresse é a elevação da concentração de cortisol na corrente sanguínea (Cruz e Souza, 2007; Zavy et al., 1992; Mills, 1997; Grandin 1997; Gauly et al., 2002; Curley Jr. et al., 2004). O cortisol aumenta em cerca de 20 minutos diante da exposição do animal a um estresse agudo e alcança um platô dentro de duas horas (Christison; Johnson, 1972). O aumento do cortisol inibe a atividade do hipotálamo e da hipófise provocando a queda na produção e secreção de prolactina, de somatotropina (hormônios do crescimento), do hormônio estimulante da tiróide e das gonadotrofinas (hormônio luteinizante e folículo estimulante) (Rivier e Rivest, 1991; Cruz e Souza; 2007).

Muitas características fisiológicas de um indivíduo podem influenciar as respostas de cortisol ao estresse (Tilbrook e Clarke, 2006). Por exemplo, a resposta de cortisol ao estresse pode ser influenciada pelo sexo (Turner et al., 2002 e Turner et al., 2006), a quantidade de tecido adiposo visceral (Tilbrook et al., 2008) ou pela lactação (Tilbrook et al., 2006). Há também resposta individuais dos animais que são naturalmente mais ou menos responsivo ao estresse,

possivelmente devido à fatores como a predisposição genética, experiências anteriores ec/ou efeitos ambientais (Turner e tal., 2010).

Pierce et al. (2008) demonstraram que a imposição do estresse por períodos de 4 horas em ovinos pode ter um impacto sobre o comportamento sexual, que pode levar a uma diminuição no número de cópulas, conseqüentemente, afetando o sucesso reprodutivo. Burrow et al. (1988) relataram que fêmeas agressivas apresentaram redução significativa no número de estros quando comparadas com fêmeas mansas.

Daley et al. (1999) demonstraram que ovelhas submetidas a estresse contínuo, com altas concentrações de cortisol plasmático, durante a fase folicular suprime a secreção de estradiol e o crescimento folicular, e a secreção de LH é bloqueada em mais de 50% das ovelhas.

Khalid et al. (1998) analisaram a concentração de cortisol plasmático em ovelhas submetidas à inseminação cervical ou laparoscópica e os procedimentos de manipulação associados com tais técnicas. As ovelhas apresentaram elevação na concentração de cortisol em ambos os procedimentos de contenção nas duas técnicas avaliadas.

Para Abi-Saab e Sleiman (1995), os critérios de tolerância, longevidade e adaptação dos animais são determinados também pelas medidas fisiológicas de frequência respiratória (FR), cardíaca (FC) e temperatura corporal (TC).

Kolb (1980) e Reece (1988) mostraram que variáveis como FR e FC são bons indicadores do estado de saúde, mas para ser interpretada corretamente, fatores como a espécie, estado fisiológico, excitabilidade e meio ambiente, devem ser levados em consideração. Silva e Gondim (1971) reportam que a FC é uma variável sujeita a um grande número de fatores além da temperatura ambiente, como a idade, a individualidade, o temperamento e o grau de excitação do animal.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-SAAB, S.; SLEIMAN, F. T. Physiological responses to stress of filial crosses compared to local Awassi sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 6, p. 55-59, 1995.

ALMEIDA, V. M.; CÂMARA, D. R.; SALLES, H. O.; OLIVEIRA, D. P. F.; MEDEIROS, J. N.; ALVES, O. M. M. Colheita de embriões via transcervical em ovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, supl. 5, p. 82-84, 2002

ANEL, L.; ALVAREZ, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; GARCIA-MACIAS, V.; ANEL, E.; DE PAZ, P. Improvement strategies in ovine artificial insemination. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 41, supl. 2, p. 30-42, 2006.

ANEL, L.; KAABI, M.; ABROUG, B.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J.C.; DE LA FUENTE, L.F.; DE PAZ, P. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. **Theriogenology**, v. 63, p. 1235-1247, 2005.

ARAL, F.; YAVUZER, U.; ZONTURLU, A. K. The Effect of Air Pressure with Cervical Artificial Insemination on the Fertility of Awassi Ewes Synchronized with PGF2 α . **Kafkas Univ Vet Fak Derg**, v. 16, p. 37-41, 2010.

AX, R. L.; DALLY, M. R.; DIDION, B. A.; LENZ, R. W.; LOVE, C. C.; VARNER, D. D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M. E. Inseminação Artificial. In: Hafez, E.S.E.; Hafez, B. (Ed.). **Reprodução Animal**. 7 ed. Barueri: Manole. p. 381-394, 2004.

BARBAS, J.P.; CAVACO GONÇALVES, S.; BAPTISTA, M.C.; MARQUES, C.C.; VASQUES, M.I.; HORTA, A.E.M. Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores do cérvix (misoprostol e sulfato de terbutalina) sobre os resultados da IA em raças ovinas locais. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**, v. 98, p.185-188, 2003.

BARBAS, J. P.; GONÇALVES, S. C.; MARQUES, C. C.; HORTA, A. E. M. Efeito da aplicação vaginal de agentes dilatadores do cérvix durante a fase folicular do ciclo em ovelhas. In III CONGRESSO IBÉRICO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, p. 299-307, 2001.

BARJE P. P, OSINOWO O. A, DIM N.I. Effect of type of diluent, storage and depth of insemination on the fertility of chilled ram semen. **Niger Journal of Animal Production**, v. 21, p. 42-45, 1994.

BARROS, N. N.; CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. S. **Boas práticas na produção de caprinos e ovinos de corte**. Sobral: EMBRAPA Caprinos, 40p. (Documentos, 57), 2005.

BICUDO, S. D.; SOUZA, D. B.; TAKADA, L. Possibilidades e limitações da inseminação com sêmen ovino refrigerado e biotécnicas associadas como estratégias de intensificação do manejo reprodutivo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 15, 2003. Porto Seguro – BA. **Anais...** Belo Horizonte - MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2003.

BREAZILE, J.E. The physiology of stress and relationship to mechanisms of disease and therapeuties. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 3, p. 441- 478, 1988.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and Animal Welfare**. London: Chapman and Hall, 1993.

BURROW, H.M.; SEIFERT, G.W.; CORBET, N.J. The new technique for measuring temperament in cattle. **Australian Society of Animal Production**, v. 17 p. 154-157, 1988.

CALDER, A. A. Prostaglandins and biological control of cervical function. **The Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 34, n. 3, p. 347- 351, 1994.

CAMPBELL, J., HARVEY, T., MCDONALD, M. E SPARKSMAN, R. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. **Theriogenology**, v. 45, p. 1535-1544, 1996.

CARDOSO, E.; CRUZ, J. F.; FERRAZ, R. C. N.; TEXEIRA NETO, M. R.; SANTOS, R. S. Avaliação econômica de diferentes técnicas de inseminação artificial em ovinos da raça Santa Inês. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 4, n. 2, p. 217-222, abr.-jun., 2009.

CHALLIS, J. R.; SPRAGUE, C.; PATRICK, J. E. Relationship between diurnal changes in peripheral plasma progesterone, cortisol, and estriol in normal women at 30-31, 34-35, and 38-39 weeks of gestation. **Gynecology Obstetrics Investigation**, v. 16, n. 1, p. 33-44, 1983.

CHRISTISON, G.I., JOHNSON, H.D. Cortisol turnover in heat- stressed cows. **Journal of Animal Science**, v. 53, p.1005–1010, 1972.

CRUZ JUNIOR, C. A. **Caracterização anatômica e histológica da cérvix de ovelhas da raça Santa Inês**. 45f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2006.

CRUZ, V.F.; SOUZA, P. **Sistema integrado de monitoramento do bem-estar animal**. Áreas de transferência de tecnologia e bem-estar animal. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=artigos&cod_artigo=224>. Acesso em: 2/12/2008.

CURLEY JR., K.O.; NEUENDORFTT, D.A.; LEWIS, A.W. **Evaluation of temperament and stress physiology may be useful in breeding programs**. Texas: Beef Cattle Research in Texas publication (Section Physiology), p.1-4, 2004.

DALEY, C.A.; SAKURAI, H.; ADAMS, B.M.; ADAMS, T.E. Effect of Stress-Like Concentrations of Cortisol on Gonadotroph Function in Orchidectomized Sheep. **Biology of Reproduction**, v. 60, p. 158–163, 1999.

DEROSSI, R.; CARNEIRO, R.P.B.; OSSUNA, M.R.; ZANENGA, N.F.; ALVES, O.D.; JORGE, T.P.; COSTA-E-SILVA, E.V. E VASCONCELOS, J. Sub-arachnoid ketamine administration combined with or without misoprostol/oxytocin to facilitate cervical dilation in ewes: A case study. **Small Ruminant Research**, v. 83, p. 74–78, 2009.

EPPLESTON, J.; SALAMON, S.; MOORE, N.W.; EVANS, G. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. **Animal Reproduction Science**, v. 36, p. 211–25, 1994.

EVANS, G., AND W.M.C. MAXWELL. **Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats**. Butterworths, Sydney, Australia, 1987.

FAO. FAOSTAT. 2007. Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br/pop/noticia.asp?noticialD=36794&arealD=1&secaolD=8>>. Acesso em: 25 agost. 2011.

FLOHR, S.F.; WULSTER-RADCLIFFE, M.C.; LEWIS, G.S. Technical Note: Development of transcervical oocyte recovery procedure for sheep. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2583-2586, 1999.

FUKUI Y.; ROBERTS E.; FURTHER. studies on non-surgical intrauterine technique for artificial insemination in the ewe. **Theriogenology**, v. 10. p. 381–93, 1978.

GAULY, M.; MATHIAK, H.; ERHARDT, G. Genetic background of behavioural and plasma cortisol response to repeated shortterm separation and tethering of beef calves. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 119, n. 6, p. 379-384, 2002.

GHALSASI, P. M.; NIMBKAR, C. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 23, p. 69-73, 1996.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 249-257, 1997.

GUSMÃO, A. L.; SILVA, J. C.; BITTENCOURT, T. C. C.; MARTINS, L. E. P.; GORDIANO, H. D.; BARBOSA, L. P. Coleta transcervical de embriões em ovinos da raça Dorper no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Arquivo Brasileiro Medicina de Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 313-318, 2009

HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; BUCKRELL, B. C. A technique for transcervical intrauterine insemination in ewes. **Theriogenology**, v. 33, p. 993-1010, 1990a.

HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; SHARPE, P.; BUCKRELL, B. C. Field evaluation of a technique for transcervical intra-uterine insemination of ewes. **Theriogenology**, v. 33, p. 1231-1243 1990b.

HALBERT, G. W.; DOBSON, H.; WALTON, J. S.; BUCKRELL, B. C. The structure of the cervical canal of the ewe. **Theriogenology**; v. 33, p. 977– 92, 1990c.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE, 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 Fevereiro 2011.

IVANKA B.R.C.; HEIDI, C.B.; NADINE, T.P.; KAITLYN, R.H.; PAWEL M.B. A preliminary study on the suitability of Cervidil to induce cervical dilation for artificial insemination in ewes. **Research in Veterinary Science**, v. 87, p. 204–206, 2009.

KAABI, M.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; CHAMORRO, C. A.; BOIXO, J. C.; DE PAZ, P.; ANEL, L. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: a postmortem study. **Theriogenology**, v. 66, p. 1876–83, 2006.

KAABI, M.; ÁLVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J.; CHAMORRO, C.; OLMEDO, J.; MARTINEZ, S.; PAZ, P.; ANEL, L. Estudio comparativo de la penetración cervical de cuatro catéteres de inseminación en la especie ovina. In: **3º Congreso Ibérico de Reprodução Animal**, Porto, 6-8 Julho, p. 581-583, 2001.

KERSHAW, C. M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M. R.; INGRAM, K.; LEETHONGDEE, S.; WAX, G.; SCARAMUZZI, R. J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**, v. 64, p. 1225–1235, 2005.

KHALID, M.; HARESIGN, W. e BRADLEY, D.G. Heart rate responses and plasma cortisol concentrations in ewes: comparison between cervical and laparoscopic intrauterine insemination and their associated handling procedures. **Animal Science**, v. 66, p. 383-387, 1998.

KHALIFA, R.M.E.; SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 38–42, 1992.

KILLEN, I. D.; CAFFERY, G. J. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. **Australian Veterinary Journal**, v. 59, p. 95, 1982.

KOLB, E. Coração e circulação. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 293–294, 1980.

LEETHONGDEE, S.; KERSHAW-YOUNG, C.M.; SCARAMUZZI, R. J.; KHALID, M. Intra-cervical application of Misoprostol at estrus alters the content of cervical hyaluronan and the mRNA expression of follicle stimulating hormone receptor (FSHR), luteinizing hormone receptor (LHR) and cyclooxygenase-2 in the ewe. **Theriogenology**, v. 73, p. 1257–1266, 2010a.

LEETHONGDEE, S. Development of trans-cervical artificial insemination in sheep with special reference to anatomy of cervix. **Suranaree Journal of Science and Technology**, v. 17, p. 57-69, 2010b.

LEETHONGDEE, S.; KHALID, M.; BHATTI, A.; PONGLOWHAPAN, S.; KERSHAW, C. M.; SCARAMUZZI, R. J. The effects of the prostaglandin E analogue Misoprostol and follicle-stimulating hormone on cervical penetrability in ewes during the peri-ovulatory period. **Theriogenology**, v. 67, p. 767–77, 2007.

LEPPERT, P. C. Anatomy and physiology of cervical ripening. **Clinical Obstetrics & Gynecology**, v. 38, p. 267–79, 1995.

MACHADO, V. P.; NUNES, J. F.; ARAÚJO, A. A.; FERNANDÉZ, D. R. P.; CORDEIRO, M. A.; MEDEIROS, C. H. N.; MEDEIROS, A. L. N. MONTEIRO, A. W. U. Fertilidade após a inseminação artificial intracervical ou laparoscópica intra-uterina de ovelhas utilizando diluidores à base de água de coco. **Brazilian Journal of veterinary Research and animal Science**, v. 43, suplemento, p. 43-49, 2006

MAFFEI, W.E. Reatividade animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 81-92, 2009

MOURA, D.S.; LOURENÇO, T.T.; MOSCARDINI, M.M.; SCOTT, C.; FONSECA, P.O. e SOUZA, F.F. Aspectos morfológicos da cervice de ovelhas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, p. 133-38, 2011

MARTINEZ, M.L.; YAMAGUCHI, L.C.T.; VERNEQUE, R.S. **Aplicativo para cálculo do custo da monta natural e da inseminação artificial em bovinos**. EMPRAPA-CNPGL/ASBIA, 2004. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br>>. Acesso em: 12 jan. 2011.

MILLS, P. C.; NG, J. C.; KRAMER, H.; AUER, D. E. Stress response to chronic inflammation in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, n. 6, p. 483-486, 1997.

MORE´ J. Anatomy and histology of the cervix uteri of the ewe: new insights. **Acta Anat INRA Toulouse**, v. 120, p. 156–159, 1984.

MONREAL, A. C. D.; MARTINS, C. F.; SOUZA, A. S.; ANJOS, D. S. Deposição de sêmen congelado em ovelhas nativas pela técnica transcervical. **Revista Agrarian**, v. 3, n. 10, p. 286-292, 2011.

MONREAL, A.C.D.; LEITE, L.R.C. e BAKARJI, E.W.D. Efeito do eCG na fertilidade de ovelhas mestiças inseminadas com sêmen congelado em tempo fixo durante a transição anestro-estro. **Agrarian**, v. 1, p. 79-90, 2008.

NAQVI, S. M. K.; PANDEY, G. K.; GAUTAM, K. K.; JOSHI, A.; GEETHALAKSHMI, V.; MITTAL, J. P. Evaluation of gross anatomical features of cervix of tropical sheep using cervical silicone moulds. **Animal Reproduction Science**, v. 85, p. 337–44, 2005.

PAULENZ, H.; SÖDERQUIST, L.; ÅDNØY, A. B.; NORDSTOGA, B.; ANDERSEN BERG, K. Effect of vaginal and cervical deposition of semen on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. **The Veterinary Record**, v. 156, p. 372-375, 2005.

PIERCE, B. N.; HEMSWORTH, P. H.; RIVALLAND, E. T. A.; WAGENMAKER, E. R.; MORRISSEY, A. D.; PAPARGIRIS, M. M.; CLARKE, I. J.; KARSCH, F. J.; TURNER, A. I.; TILBROOK, A. J. Psychosocial stress suppresses attractiveness, receptivity and pulsatile LH secretion in the ewe. **Hormones and Behavior**, v. 54, p. 424–434, 2008.

RABASSA, V. R.; TABELÃO, V. C.; PFEIFER, L. F. M.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E. A.; SCHOSSLER, E.; SEVERO, N. C.; DEL PINO, F. A. B.; CORRÊA, M. N. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 127-133, 2007.

REECE, W. O. Respiração nos mamíferos. In: Dukes, H. H.; Swenson, M. J. **Fisiologia dos animais domésticos**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 199–205, 1988.

RIVIER, C. e RIVEST, S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic–pituitary–gonadal axis: peripheral and central mechanisms. **biology of reproduction**. v. 45, p. 523–532, 1991.

ROJERO, R.D.M. Cervical or intrauterine artificial insemination in Pelibuey ewes, with chilled semen. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, p. 2621–2625, 2009.

SANTOS, D. F.; SANTOS, D. C.; CONCEIÇÃO, J. C.; CARVALHO, A. L. C.; LISBOA, M. L. O. Taxa de gestação em fêmeas Santa Inês inseminadas pela via transcervical com sêmen fresco associada ou não à anestesia epidural. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, p. 224-230, jan/mar, 2009.

SÁNCHEZ-PARTIDA, L. G.; WINDSOR, D. P.; EPPLESTON, J.; SETCHELL, B. P.; MAXWELL, W. M. Fertility and its relationship to motility characteristics of spermatozoa in ewes after cervical, transcervical, and intrauterine with frozen-thawed ram semen. **Journal of Andrology**, v. 2, p. 280-283, 1999.

SAYRE, B.L. e LEWIS, G. S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. **Theriogenology**, v. 48, n. 2, p. 267-275, 1997.

SAYRE, B.; LEWIS, G. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. **Theriogenology**, v. 45, n. 8, p.1523–1533, 1996.

SILVA, N. V.; COSTA, R. G.; FREITAS, C. R. G.; GALINDO, M. C. T.; SILVA, L. S. Alimentação de ovinos em regiões semiáridas do Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 4, p. 233-241, 2010.

SILVA, B. D. M. **Sincronização de estro com prostaglandina F2 α versus progesterona associada à Gonadotrofina Coriônica eqüina (eCG) em ovelhas deslanadas no distrito federal**. 2008. 50f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Distrito Federal.

SILVA, J. C. B.; OLIVEIRA, R.; SCHNEIDER, C.; TRALDI, A. S. Inseminação artificial intra-uterina em ovinos por tração cervical. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33; Supl. 1, p. 307, 2005.

SILVA, A. C. J. et al. Noções básicas da anatomia funcional do sistema reprodutor da cabra e da ovelha. In: SANTOS, M.H.B.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. (Eds). **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 9-16, 2005.

SILVA, R. G.; GONDIM, A. G. Comparação entre as raças Sindi e Jersey e seus mestiços, relativamente à tolerância ao calor na região Amazônica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 6, p. 37-44, 1971.

SOUSA, J. H. M. **Coleta de embriões e resposta superovulatória utilizando diferentes preparações de FSH em ovelhas deslanadas na região semi-árida da Paraíba**. 1999. 57f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, Areia.

STELLFLUG, J. N.; WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; HENSLEY, E. L.; COWARDIN, E. A.; SEALS, R. C.; LEWIS, G. S. Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: Effects on laparoscopic artificial insemination. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 568–573, 2001.

TAQUEDA, G. S.; AZEVEDO, H. C.; SANTOS, E. M.; MATOS, J. E.; BITTENCOURT, R. F.; BICUDO, S. D. Influência de aspectos técnicos e anatômicos nos índices de fertilidade baseado no desempenho da inseminação artificial transcervical em ovinos. **Ars Veterinaria**, v. 27, n. 2, p. 127-133, 2011.

TILBROOK, A. J.; RIVALLAND, E. A.; TURNER, A. I.; LAMBERT, G. W.; CLARKE, I. J. Responses of the hypothalamopituitary adrenal axis and the sympathoadrenal system to isolation/restraint stress in sheep of different adiposity. **Neuroendocrinology**, v. 87, p. 193–205, 2008.

TILBROOK, A.J. e CLARKE, I.J. Neuroendocrine mechanisms of innate states of attenuated responsiveness of the hypothalamo-pituitary adrenal axis to stress. *Front. Neuroendocrinol.* v. 27, p. 285–307, 2006.

TILBROOK, A.J. Activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis by isolation and restraint stress during lactation in ewes: effect of the presence of the lamb and suckling. *Endocrinology*, v. 147, p. 3501–3509, 2006.

TURNER, A. I.; RIVALLAND, E. T. A.; CLARKE, I. J.; TILBROOK, A. J. Stressor Specificity of Sex Differences in Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Activity: Cortisol Responses to Exercise, Endotoxin, Wetting, and Isolation/Restraint Stress in Gonadectomized Male and Female Sheep. *Endocrinology*, v. 151, p. 4324-4331, 2010.

TURNER, A.I.; HOSKING, B. J.; PARR, R. A.; TILBROOK, A. J. A sex difference in the cortisol response to tail docking and ACTH develops between 1 and 8 weeks of age in lambs. *Journal Endocrinology*, v. 188, p. 443–449, 2006.

TURNER, A. I.; CANNY, B. J.; HOBBS, R. J.; BOND, J. D.; CLARKE, I. J.; TILBROOK, A. J. Influence of sex and gonadal status of sheep on cortisol secretion in response to ACTH and on cortisol and LH secretion in response to stress: importance of different stressors. *Journal Endocrinology*, v. 173, p. 113–122, 2002.

WINDSOR, D. P.; SZÉLL A. Z.; BUSCHBECK, C.; EDWARD, A. Y.; MILTON, J. T.; BUCKRELL, B. C. Transcervical artificial insemination of Australian Merino ewes with frozen semen. *Theriogenology*, v. 42, p. 147-157, 1994.

WULSTER-RADCLIFFE, M. C.; COSTINE, B. A.; LEWIS, G. S. Estradiol-17 betaoxytocin- induced cervical dilation in sheep: Application to transcervical embryo transfer. *Journal of Animal Science*, v. 77, p. 2587-2593, 1999.

ULDBJERG, N.; EKMAN, G.; MALMSTRÖM, A.; OLSSON, K.; ULMSTEN, U. Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans, and collagenolytic activity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 147, p. 662–666, 1983.

VIANA, J.G.A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. *Revista Ovino*, Ano 4, N° 12, 2008.

VIDAL, M. F.; SILVA, R. G.; NEIVA, J. N. M.; CÂNDIDO, M. J. D.; SILVA, D. S.; PEIXOTO, M. J. A. Análise econômica da produção de ovinos em lotação rotativa em pastagem de capim tanzânia (*Panicum maximum* (Jacq)). *Revista de Economia e Sociologia Rural*, vol. 44, n.4, 2006.

ZAVY, M.T.; JUNIEWIC, P.E.; PHILLIS, W.A. Effect of initial restraint, weaning, and transport stress on baseline and ACTHstimulated cortisol responses in beef calves of different genotypes. **Animal Journal Veterinary Research** , v. 53, n. 4, p. 551-557, 1992.

CAPÍTULO 1

ALTERNATIVAS PARA VIABILIZAR A TÉCNICA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL TRANSCERVICAL NA ESPÉCIE OVINA¹

¹Artigo submetido ao comitê editorial do periódico científico Small Ruminant Research.

CAPÍTULO 1

Alternativas para viabilizar a técnica de inseminação artificial transcervical na espécie ovina

Bianor Matias Cardoso Neto¹, Larissa Pires Barbosa¹, Patrícia Alves Dutra¹, Ana Lúcia de Almeida Santana¹, Cristiane da Silva Aguiar¹, Rosiléia Silva Souza¹, Evie Souza da Silva²

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Brasil.

²Médica Veterinária.

Resumo

O estudo teve como objetivo avaliar alternativas para viabilizar a técnica de inseminação artificial (IA) transcervical na espécie ovina. Foram utilizadas 114 ovelhas Santa Inês distribuídas em cinco grupos (G), sendo: G1 - IA transcervical sem utilização de dilatador cervical (n=23); G2 - IA transcervical com aplicação de 500UI de ocitocina, 11h antes da IA, por via intramuscular (IM) (n=23); G3 - IA transcervical com aplicação de 1mg de estrógeno, 11h antes da IA, IM (n=22); G4 - IA transcervical com aplicação de 0,0375mg de prostaglandina F₂α (PGF₂α), 11h antes da IA, IM (n= 23) e G5 - IA por laparoscopia (n=23). As fêmeas tiveram os seus estros sincronizados utilizando esponjas intravaginais com acetato de medroxiprogesterona durante seis dias e foram inseminadas 50h após a retirada das esponjas, com sêmen fresco diluído. Houve diferença no tempo gasto para realização da IA (P<0,05), sendo menor para o grupo inseminado por laparoscopia, com média de 4`13``, comparado aos demais grupos 1, 2, 3 e 4, com duração de 5`54``; 5`37``; 5`37`` e 5`27``, respectivamente. A taxa de gestação para o grupo inseminado por laparoscopia foi de 68,18%, superior (P<0,05) aos grupos 1, 2, 3 e 4, que apresentaram taxa de gestação de 30,4%; 8,6%, 0,0% e 13,0%, respectivamente. Não houve diferença para concentração plasmática de cortisol entre os grupos após a inseminação, com média entre os grupos de 29,95 ng/mL. A inseminação por laparoscopia foi o método mais eficiente por apresentar maior taxa de gestação, maior rapidez e com mesmo nível de indução de estresse, do que as inseminações transcervicais.

Palavras-chave: dilatadores cervicais, laparoscopia, Santa Inês, estresse, taxa de gestação

Introdução

Na espécie ovina, devido às características anatômicas da cérvix, apresentando anéis tortuosos e reduzido diâmetro de orifício (Kershaw et al., 2005), a inseminação artificial intrauterina por laparoscopia é a principal técnica utilizada (Killen & Caffery, 1982; Ghalsasi & Nimbkar, 1996, Anel et al., 2006). Esta, contudo, apresenta várias limitações, por se tratar de um procedimento cirúrgico e exigir a utilização de equipamentos de alto custo e mão-de-obra especializada, sendo economicamente inviável na maioria das propriedades de criação ovina (Evans & Maxwell, 1987).

Como alternativa à realização de IA intra-uterina em ovinos utiliza-se a técnica por via transcervical, a qual, por ser um método não cirúrgico, reduz os custos da IA (Rabassa, 2007).

Em razão da passagem do aplicador pela cérvix ser o principal entrave para realização de inseminação artificial transcervical na espécie ovina, algumas substâncias têm sido utilizadas com o objetivo de promover o relaxamento e abertura cervical (Santos et al., 2009), como os hormônios, ocitocina (Sayre & Lewis, 1996), estradiol (Wulster-Radcliffe et al., 1999) e as prostaglandinas (Ivanka et al., 2009).

Desta forma, objetivou-se avaliar alternativas para viabilizar a técnica de IA transcervical na espécie ovina, por meio da taxa de gestação, tempo gasto, temperatura retal, frequência respiratória, frequência cardíaca e concentração plasmática de cortisol.

Material e Métodos

LOCALIZAÇÃO

O experimento foi realizado na fazenda São João, no município de Entre Rios – Bahia, localizado a uma latitude de 11°56'31" sul e a uma longitude de 38°05'04" oeste, estando a uma altitude de 162 metros, com pluviosidade de 1200mm anual e com clima quente e semi-úmido, classificação climática de koppen-Geiger: As. Por ser uma região tropical, os animais apresentam atividade reprodutiva durante o ano inteiro. O experimento foi realizado no período de abril a junho de 2010.

ANIMAIS E MANEJO

Foram utilizadas 114 fêmeas ovinas não estacionais, da raça Santa Inês, sendo 35 nulíparas e 79 pluríparas, distribuídas de forma igualitária entre os grupos. As fêmeas apresentaram condição corporal entre 2,0 a 3,0; segundo Morand-Fehr e Hervieu (1999), peso medio de 42 kg±7, idade de 1 a 4 anos e as pluríparas estavam entre o primeiro e o terceiro parto.

As fêmeas foram mantidas em regime de confinamento semi-intensivo, durante o dia em pasto de braquiária (*Brachiaria sp.*) e capim elefante (*Pennisetum purpureum*) ao entardecer os animais eram recolhidos em baias de piso ripado e suplementadas com 200g de concentrado a base de farelo de milho e soja, sal mineral e água foram fornecidos à vontade durante todo o período experimental.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As fêmeas foram distribuídas em cinco grupos (G), sendo: G1 - IA transcervical sem utilização de dilatador cervical (n=23); G2 - IA transcervical com aplicação de 500UI de ocitocina (Placentina®, UCB, Brasil) por via intramuscular (IM), 11 horas antes da inseminação (n=23); G3 - IA transcervical com aplicação de 1mg de Benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet, Brasil) por via IM, 11 horas antes da inseminação (n=22); G4 - IA transcervical com aplicação de 0,0375mg de prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Prolise®, Tecnopec, Brasil) por via IM, 11 horas antes da inseminação (n= 23) e G5 - IA por laparoscopia, que é a tecnica mais utilizada para a espécie ovina (n=23).

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO

Para sincronização do estro e indução foi utilizada esponja intravaginal impregnada com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP; Progespon®, Syntex, Argentina), durante um período de 6 dias. No momento da retirada das esponjas, foi aplicado 0,5mL de um análogo sintético da PGF2 α , o d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e 300UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novormon®, Syntex, Argentina), ambos por via IM.

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL TRANSCERVICAL

As inseminações transcervicais, foram realizadas pelo mesmo inseminador, 50h após a retirada da esponja com o animal em estação, disposto em tronco suspenço. A localização do óstio caudal da cérvix foi realizada com o auxílio de um espéculo vaginal do tipo anoscópio de três astes, medindo 20 cm, e fonte de luz. Após sua visualização, a mesma foi pinçada com o auxílio de uma pinça de Allis medindo 25 cm e tracionada em direção ao vestíbulo da vulva. Para ultrapassar os anéis cervicais foi utilizado aplicador de inseminação artificial para ovinos (Aplicador Expansor Ovino®, Alta Genetics, Brasil).

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL POR LAPAROSCOPIA

As inseminações artificiais por laparoscopia foram realizadas pelo mesmo inseminador, com as fêmeas sedadas, utilizando 0,3 mL de cloridrato de xilazina a 2% por via Intramuscular (Rompun®, Bayer, Brasil) e contidas em maca em decúbito dorsal, sustentadas em cavalete à 1m de altura, em posição Trendelenburg. Foi realizada anestesia local infiltrativa na região ventral do abdomen, com cloridrato de lidocaína a 2% (Anestésico L[®], Eurofarma, Brasil), em dois pontos bilaterais localizados caudalmente ao umbigo e bilateral à linha média.

O laparoscópio (Endoview®, Alemanha) foi introduzido na cavidade abdominal por meio de trocaterização nos pontos anestesiados, mediante o emprego de dois trocateres de 10 mm. Através de um dos trocateres procedeu-se a penetração da ótica, enquanto que por intermédio do outro trocater foi introduzido um bastão de aço inox com extremidades rombas medindo 30 cm, para auxiliar a manipulação e

localização do útero, em seguida foi realizada a deposição de metade da dose inseminante na porção medial de cada corno uterino utilizando pipeta (Aspic®, IMV, France) inseminação Intrauterina.

PREPARAÇÃO DO SÊMEN

Para todas as inseminações foi utilizado sêmen fresco diluído, coletado pelo método da vagina artificial, de três reprodutores da raça Dorper. O sêmen foi avaliado previamente sendo utilizado apenas sêmen que tivesse no mínimo 3 de turbilhão, 70% de motilidade e 3 de vigor (CBRA, 1998), para cálculo do número de doses e diluição. Para diluição do sêmen foi utilizado o meio Holding Plus® (Nutricell, Brasil), em uma concentração de 150×10^6 espermatozoides por dose inseminante em palhetas de 0,25 mL, durante as inseminações o sêmen foi mantido a 37°C em banho-maria.

AValiação cervical

Os parâmetros avaliados foram: tipo de óstio caudal da cérvix, local de deposição do sêmen no aparelho genital da fêmea, tipo de muco cervical, abertura cervical, duração de execução das IAs, temperatura retal (TR), frequências respiratória (FR) e cardíaca (FC), concentração plasmática de cortisol, taxa de gestação e avaliação econômica.

Os parâmetros tipo de óstio caudal da cérvix, local de deposição do sêmen no aparelho genital da fêmea, tipo de muco cervical e abertura cervical foram avaliados apenas nas inseminações artificiais transcervicais. Os outros parâmetros foram avaliados em todas as inseminações artificiais.

O óstio caudal da cérvix foi classificado em bico de pato, roseta, cratera, fenda e flap, segundo de Aisen (2008). Os locais de deposição do sêmen no aparelho genital da fêmea foram divididos em superficial (no óstio cervical), médio (passagem de 2 ou 3 anéis), profundo (entre o penúltimo e último anel) e intrauterino. O muco cervical foi classificado em claro, leitoso e caseoso, segundo Aisen (2008). A abertura cervical foi classificada em pouco aberta (menor que a

largura da pipeta de inseminação), abertura intermediária (a mesma largura que a pipeta de inseminação) e muito aberta (maior que a pipeta de inseminação).

A duração de execução das IAs transcervicais foi mensurada no momento em que o animal foi colocado ao troco, até a retirada do mesmo e nas IAs laparoscópicas foi cronometrada no momento em que a maca com a fêmea foi colocada ao cavalete, até o momento da decida da maca, utilizando cronômetro digital.

PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E SANGUÍNEOS DO ESTRESSE

As fêmeas foram conduzidas individualmente por tratadores treinados orientados para que o manejo dos animais proporcionasse o bem estar dos mesmos. Para a avaliação do estresse foi aferida a temperatura retal (TR), as frequências respiratória (FR) e cardíaca (FC). A temperatura retal foi aferida com termômetro clínico digital introduzido diretamente no reto do animal, a uma profundidade de 5 cm. A frequência respiratória (FR) (mov/min) foi mensurada por meio da auscultação direta das bulhas na região laringo-traqueal com auxílio de um estetoscópio. A frequência cardíaca (FC) (bat/min) foi obtida com o auxílio de um estetoscópio, colocado diretamente na região torácica esquerda à altura do arco aórtico.

Para avaliação da concentração plasmática de cortisol foi coletado 5 mL de sangue da veia jugular com tubo a vácuo contendo anti-coagulante EDTA. Foram feitas duas coletas, a primeira seis dias antes das inseminações artificiais no momento da retirada das esponjas e a segunda logo após a realização das inseminações. As amostras de sangue foram centrifugadas à 3000 rpm por 15 min, para obtenção do plasma sanguíneo, em seguida o plasma foi aspirado e armazenadas em tubos plásticos e mantido em freezer a -20°C, para posterior análises. A determinação da concentração plasmática de cortisol foi realizada pelo método de quimioluminescência, utilizando kit comercial (Access®, Beckman Coulter, EUA), seguindo as orientações recomendadas pelo fabricante.

DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

A taxa de gestação foi avaliada 35 dias após a inseminação artificial por meio de ultrassonografia transretal, utilizando um aparelho de ultrassom Pie Medical (modelo Àquila Vet) acoplado a um transdutor linear de 6,0 MHz, confirmando a gestação pela presença de embrião com batimentos cardíacos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, variando a condição reprodutiva das fêmeas. Para todas as características estudadas foi testada a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Willks. As variáveis que apresentaram distribuição normal (temperatura e frequência cardíaca) foram analisadas por meio de Análise de Variância, pelo procedimento GLM e as médias foram comparadas utilizando-se o Teste de Tukey (SAS, 2004), adotando um nível de 5% de significância. Para as demais variáveis foi utilizada a Metodologia de Modelos Lineares Generalizados, utilizando o procedimento GENMOD (SAS, 2004). Foi utilizada a correlação de Pearson para avaliar a correlação entre todos os parâmetros.

Resultados e Discussão

Nos animais do grupo com aplicação previde estógeno 11h antes da Inseminação artificial foi observado que apresentaram cérvix flácida, edemaciada e avermelhada em relação aos outros grupos.

Houve diferença no tipo de muco vaginal apresentado pelos animais dos diferentes grupos inseminados por via transcervical ($P < 0,05$). O grupo sem aplicação de dilatador cervical apresentou em média muco caseoso e o grupo com aplicação prévia de estrógeno 11h antes da IA apresentou em média muco cristalino no momento da inseminação. Os outros grupos (com aplicação prévia de ocitocina e $\text{PGF}_{2\alpha}$ 11h antes da IA) apresentaram em média tipo de muco vaginal estriado. Essa diferença pode sugerir que as ovelhas tratadas com estrógeno apresentaram estro mais tarde em relação às fêmeas dos outros

grupos, já que a mudança do tipo de muco vaginal de cristalino para estriado ocorre próximo à ovulação (Traldi, 2006).

Como demonstrado por Siqueira et al. (2009) que obteve maiores taxas de prenhez quando as fêmeas foram inseminadas quando apresentavam muco tipo estriado ou estriado-caseoso, evidenciaram que o melhor momento para se realizar a inseminação é quando o muco apresenta-se estriado, o que corresponde ao terço médio para o final do estro (12-18 horas após o seu início).

Não houve diferença significativa entre os grupos inseminados transcervicalmente ($P > 0,05$) com relação ao tipo de óstio caudal da cérvix (Tabela 1) (Figura 1).

Tabela 1. Tipo de óstio caudal da cérvix, abertura cervical e local de deposição do sêmen em ovelhas Santa Inês submetidas à inseminação artificial transcervical com e sem dilatadores cervicais

Parâmetros	Inseminação Transcervical			
	Sem dilatador	Ocitocina	Estrógeno	PGF2 α
Tipo de óstio caudal da cérvix (%)				
Bico de pato	19,0	27,3	15,0	10,0
Cratera	14,3	18,2	10,0	25,0
Flap	14,3	4,5	15,0	35,0
Roseta	52,4	50,0	60,0	30,0
Fenda	0,0	0,0	0,0	0,0
Abertura cervical (%)				
Pouco aberta	52,2	47,8	31,8	39,1
Abertura interm.	39,1	43,5	59,1	47,8
Muito aberta	8,7	8,7	9,1	13,1
Local de deposição do sêmen (%)				
Superficial	26,1	26,08	22,7	26,1
Média	30,4	34,78	13,7	26,1
Profunda	17,4	26,08	22,7	0,0
Intrauterina	26,1	13,04	40,9	47,8

Metodologia de Modelos Lineares Generalizados, utilizando o procedimento GENMOD.

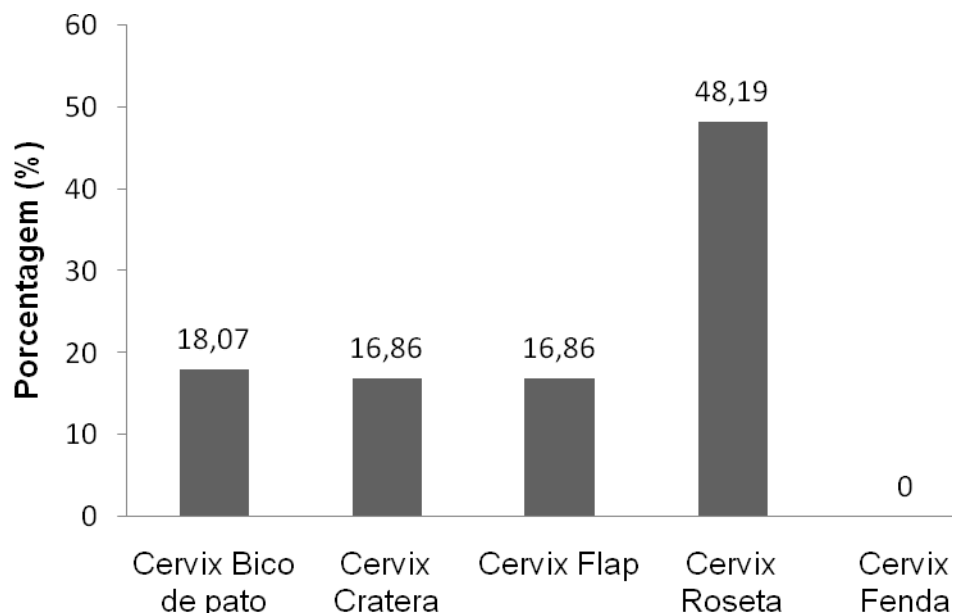


Figura 1. Tipos de óstio caudal da cérvix de ovelhas Santa Inês submetidas à inseminação artificial transcervical.

Halbert et al. (1990) e Kershaw et al. (2005) afirmaram que os tipos de óstio caudal da cérvix não influenciaram significativamente a taxa de fertilidade em ovelhas e concluíram não ser possível correlacionar o tipo de óstio caudal da cérvix com outras características como o tamanho, número de anéis e espessura.

Muitas diferenças encontradas na frequência do tipo de óstio caudal da cérvix podem ser atribuídas também à metodologia utilizada para fazer esta observação. A maioria dos autores faz esta classificação diretamente em peças anatômicas de animais abatidos, podendo ser diferente em estudos *in vivo* (Taqueda et al., 2011).

Não houve diferença para abertura cervical ($P > 0,05$) entre os grupos inseminados por via transcervical (Tabela 1). Contudo, quando se avalia o tipo de abertura cervical em todos os grupos, encontra-se uma média de 42,85% de cérvix pouco

aberta; 47,25% de cérvix com abertura intermediária e 9,89% de cérvix muito aberta (Figura 2). Mais de 90% das ovelhas apresentaram cérvix pouco aberta e com abertura intermediária, evidenciando o alto grau de oclusão cervical nessa espécie.

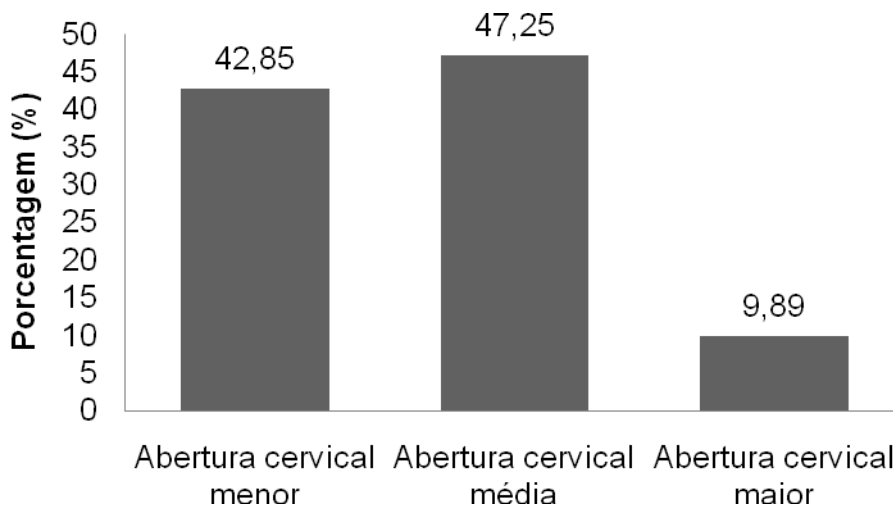


Figura 2. Abertura cervical de ovelhas Santa Inês submetidas à inseminação artificial transcervical.

Não houve diferença ($P>0,05$) entre os grupos inseminados por via transcervical com relação ao local de deposição do sêmen no aparelho genital da fêmea (Tabela 1). Quando se avalia a média encontrada em todos os grupos, tem-se 25,27% do sêmen depositado na região cervical superficial; 26,37% na região cervical média; 16,48% na região cervical profunda e 31,86%, intrauterina (Figura 3). Com base nas características avaliadas, os dilatadores cervicais químicos utilizados não facilitaram a transposição cervical e o depósito do sêmen em sítios mais profundos da cérvix de ovelhas.

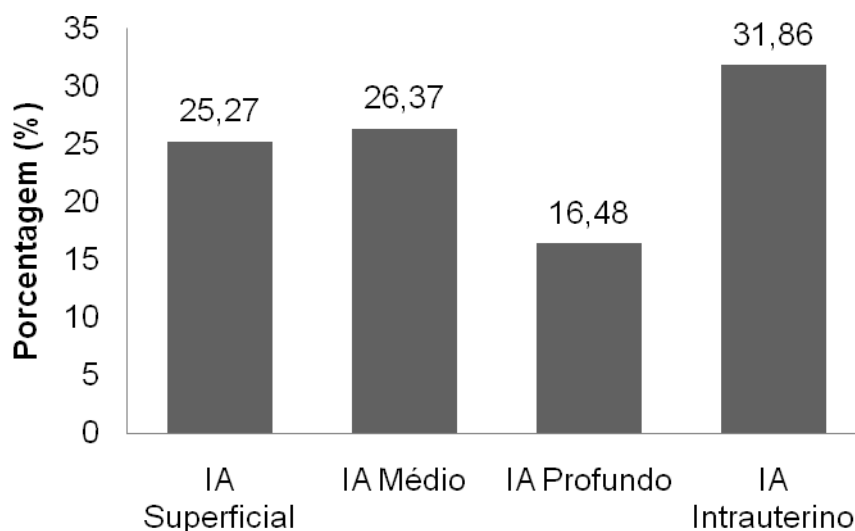


Figura 3. Local de deposição do sêmen no aparelho genital de ovelhas Santa Inês submetidas a inseminação transcervical.

Taqueda et al. (2011) em estudo com ovelhas Santa Inês sincronizadas e inseminadas com semên congelado pela via transcervical, depositaram o semên intrauterino em 39,3% das inseminações, resultado superior ao encontrado no presente estudo.

O local de deposição do sêmen apresentou correlação positiva com abertura cervical no grupo sem aplicação de dilatador ($r=0,72$) e nos grupos com aplicação de estrógeno ($r=0,45$) e $\text{PGF2}\alpha$ ($r=0,45$), com o aumento da abertura cervical o sêmen foi depositado em sítios mais profundos.

Com relação ao tempo de realização da IA, o grupo inseminado por laparoscopia apresentou o tempo médio de 4`13``, sendo inferior ($P<0,05$) aos grupos 1, 2, 3 e 4, com tempo médio de 5`54``; 5`37``; 5`37`` e 5`27``, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Tempo de inseminação, taxa de gestação e custo das inseminações de ovelhas Santa Inês submetidas à inseminação artificial transcervical com e sem aplicação prévia de dilatadores cervicais e por laparoscópica

Parâmetros	Inseminação Transcervical				Inseminação Laparoscópica
	Sem dilatador	Ocitocina	Estrógeno	PGF2 α	
Tempo (min)	5`54`±1` ^a	5`37`±1` ^a	5`37`±2` ^a	5`27`±2` ^a	4`13`±1` ^b
TG (%)	30,4 ^b	8,6 ^b	0,0 ^c	13,0 ^b	68,1 ^a

TG= Taxa de gestação e Custo de IA= Custo de Inseminação artificial por gestação

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pela metodologia GENMOD (P<0,05).

Taqueda et al. (2011), em estudo com ovelhas Santa Inês sincronizadas e inseminadas com semên congelado pela via transcervical, observaram que 53% das inseminações ocorreram entre 4 e 5 minutos e que a duração não apresentou influência sobre a fertilidade.

A taxa de gestação para o grupo inseminado por laparoscopia foi de 68,18%, sendo superior (P<0,05) aos grupos 1, 2, 3 e 4, com taxa de gestação de 30,4%; 8,6%, 0,0% e 13,0%, respectivamente (Tabela 2) e o grupo com aplicação de prévia de estrógeno apresentou taxa de gestação inferior a todos os outros grupos.

A maior taxa de gestação no grupo inseminado por laparoscopia comprova a eficiência desse método para a espécie ovina, pois o sêmen é depositado dentro do útero. O grupo tratado sem dilatador cervical apresentou resultado, semelhante aos grupos tratados com ocitocina ou PGF2 α , mostrando que a utilização desses dilatadores não contribuiu para melhorar a taxa de gestação.

A taxa de gestação de 0,0% do grupo tratado com estrógeno ocorreu provavelmente em consequência ao atraso do estro dessas ovelhas em relação

aos outros grupos, evidenciado pelo aspecto cristalino do muco vaginal das fêmeas no momento da inseminação.

Siqueira et al. (2009) enfatizam a necessidade de se observar o tipo de muco no momento da inseminação artificial, e de se realizar nova inseminação, 8 a 12 horas após a primeira, na presença de muco com aspecto cristalino.

Outra vantagem apresentada pela técnica de inseminação por laparoscopia é que a mesma foi realizada em 4`13`` e as outras inseminações ocorreram em média em 5`38``, dessa forma, as inseminações por laparoscopia foram 1`25`` mais rápidas do que as demais, contribuindo diretamente para que em uma diária, o técnico possa realizar um maior número de inseminações, reduzindo ainda mais o custo individual por inseminação.

A temperatura retal foi de 38,57; 38,01; 38,05; 37,27 e 37,65°C, para os grupos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente (Tabela 3). O grupo sem aplicação de dilatador cervical apresentou valor superior aos demais ($P<0,05$) e o grupo com aplicação prévia de PGF2 α apresentou valor semelhante ao grupo inseminado por laparoscopia e inferior aos demais. Todos os valores encontram-se abaixo da média de 39,1°C, considerada a temperatura retal fisiológica para ovinos, segundo Swenson e Reece (1996).

No grupo com aplicação de ocitocina a temperatura e taxa de gestação apresentaram correlação negativa ($P<0,05$) ($r=-0,48$). Desta forma, o aumento da temperatura corporal dos animais desse grupo pode ter levado a uma diminuição na taxa de gestação. Segundo Mcdowell et al. (1974) a elevação de 1°C na temperatura retal é o bastante para reduzir o desempenho na maioria das espécies de animais domésticos.

Os grupos 1, 2, 3, 4 e 5 apresentaram valores de FC de 78,60; 79,04; 73,81; 80,78 e 55,04 bat/min, respectivamente (Tabela 3), havendo diferença ($P<0,05$) para a variável analisada, onde o grupo inseminado por laparoscopia apresentou valores inferiores aos demais.

Tabela 3. Tempo de realização, parâmetros fisiológicos e taxa de cortisol antes e depois da inseminação de ovelhas Santa Inês submetidas à inseminação artificial transcervical com e sem aplicação prévia de dilatadores cervicais e por laparoscópica

Parâmetros	Inseminação Transcervical				Inseminação Laparoscópica
	Sem dilatador	Ocitocina	Estrógeno	PGF2 α	
TR ¹ (°C)	38,5 \pm 0,4 ^a	38,0 \pm 0,5 ^b	38,0 \pm 0,4 ^b	37,2 \pm 0,5 ^c	37,6 \pm 0,7 ^{bc}
FC ¹ (bat/min)	78,6 \pm 11,6 ^a	79,0 \pm 9,5 ^a	73,8 \pm 9,8 ^a	80,7 \pm 9,3 ^a	55,0 \pm 10,4 ^b
FR ² (mov/min)	38,4 \pm 7,7 ^a	38,6 \pm 6,2 ^a	37,6 \pm 6,7 ^a	38,5 \pm 10 ^a	58,8 \pm 23,8 ^b
Cortisol antes ¹ (ng/mL)	14,1 \pm 16,6 ^a	4,1 \pm 4,5 ^b	4,8 \pm 5,5 ^b	3,2 \pm 4,3 ^b	10,7 \pm 8,3 ^{ab}
Cortisol depois ¹ (ng/mL)	30,7 \pm 14,6	27,0 \pm 26,0	31,1 \pm 17,3	30,2 \pm 13,9	30,5 \pm 17,0

TR= Temperatura Retal; FC= Frequência cardíaca e FR=Frequência respiratória.

¹parâmetros com distribuição normal foram analisadas pela metodologia GLM. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

²Parâmetros sem distribuição normal foram analisadas pela metodologia GENMOD. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, a 5% de probabilidade.

As médias de FC dos grupos 1, 2, 3 e 4 estão dentro da faixa de normalidade de 60 a 80 batimentos por minutos, para a espécie ovina (Reece, 1996), porém o grupo inseminado por laparoscopia apresentou valores inferiores aos normais, provavelmente em consequência à sedação por xilazina, pois de acordo com Filho et al. (2000), a xilazina é um fármaco que causa rápida indução e analgesia, apresentando efeitos indesejáveis como hipotensão e bradicardia.

Os grupos 1, 2, 3, 4 e 5 apresentaram valores de FR de 38,43; 38,60; 37,63; 38,52 e 58,85 mov/min, respectivamente (Tabela 3), sendo o grupo inseminado por laparoscopia superior aos demais ($P < 0,05$). Todos os valores encontrados

foram superiores aos valores fisiológicos de FR para a espécie ovina, que é de 16 a 34 mov/min (Swenson & Reece, 1996). Em estudos com ovinos Santa Inês no nordeste brasileiro, onde avaliou a FR, mais de 90% das aferições observadas foram também superiores a 34 mov/min (Santos et al., 2006; Oliveira et al., 2005 e Neiva et al., 2004).

Houve diferença entre os grupos para a concentração plasmática de cortisol antes das inseminações. O grupo sem aplicação de dilatador cervical (14,19 ng/mL) apresentou concentração de cortisol semelhante à do grupo inseminado por laparoscopia (10,76 ng/mL) e superior aos demais grupos (G2 - 4,19 ng/mL; G3 - 4,89 ng/mL e G4 - 3,22 ng/mL) (Tabela 3) (Figura 4).

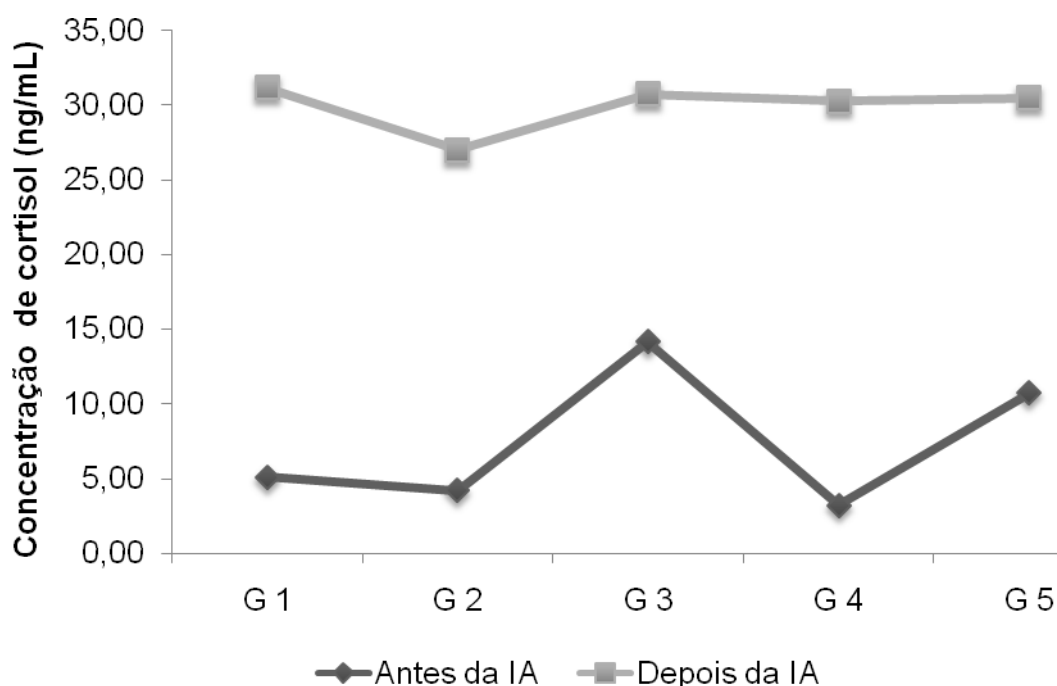


Figura 4. Concentração de cortisol antes e depois da Inseminação artificial.

G1 - IA transcervical sem utilização de dilatador cervical; G2 - IA transcervical com aplicação de 500UI de ocitocina; G3 - IA transcervical com aplicação de 1mg de estrógeno; G4 - IA transcervical com aplicação de 0,0375mg de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e G5 - IA por laparoscopia.

Não houve diferença entre os grupos com relação à concentração plasmática de cortisol após a realização das inseminações, sendo de 30,76; 27,01; 31,19; 30,29

e 30,50 ng/mL para os grupos 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente (Tabela 3). Esses resultados demonstram o mesmo nível de estresse gerado pelas diferentes técnicas utilizadas e evidência a eficiência da anestesia em manter o baixo nível de cortisol semelhante ao demonstrado por Pereira e Marques (2009) que encontraram valores menores de cortisol em animais anestesiados.

A diferença na concentração plasmática de cortisol antes e após as técnicas de inseminação artificial sugere, com aumento de cortisol na segunda coleta, a indução de estresse por todas as técnicas utilizadas. Resultado semelhante ao encontrado por Houdeau et al. (2002), que também não encontrou diferença na concentração plasmática de cortisol em ovelhas, independente da técnica de inseminação artificial utilizada.

Conclusões

A inseminação artificial por laparoscopia é o método mais eficiente em ovelhas Santa Inês, com base na taxa de gestação e rapidez de execução da técnica.

A utilização dos dilatadores cervicais testados no presente estudo, em inseminações artificiais transcervicais em ovelhas Santa Inês, por não melhorar a transposição cervical e os resultados obtidos de taxa de gestação, não é recomendada.

A inseminação artificial por laparoscopia ou pelo método transcervical com ou sem aplicação prévia de dilatadores cervicais produzem o mesmo nível de estresse em ovelhas.

Referências

Aisen, E.G., 2008. Reprodução ovina e caprina.ed. Medvet, São Paulo.

Anel, L., Alavarez, M., Martinez-Pastor, F., Garcia-Macias, V., Anel, E., Paz de P., 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. **Reprod. in Dom. An.** 41, 30-42.

Cardoso, E., Cruz, J.F., Ferraz, R.C.N., Teixeira Neto. M.R., Santos, R.S., 2009. Avaliação econômica de diferentes técnicas de inseminação artificial em ovinos da raça Santa Inês. **Rev. Bras. de Ciên. Agr.** 4, 217-222.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA, 1998. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2 ed. Belo Horizonte: CBRA.

Evans, G., Maxwell, W.M.C., 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths, Sydney, Australia.

Filho, O.R.P., Steffens, V.A., Santos, A.B., Lukiantchuki, L.P.A., Moreira, R.P., 2000. Xilazina como pré-medicação para anestesia com tiopental sódico em cães. **Acta Cir. Bras.**15.

Ghalsasi, P.M., Nimbkar, C., 1996. Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. **Small Rum. Res.** 23, p. 69-73.

Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S., Buckrell, B.C., 1990. The structure of the cervical canal of the ewe. **Theriogenology.** 33, p. 977– 992.

Houdeau, E., Raynal, P., Marnet, P., Germain, G., Mormède, P., Rossano, B., Monnerie, R., Prud'homme, M., 2002. Plasma levels of cortisol and oxytocin, and uterine activity after cervical artificial insemination in the ewe. **Reprod. Nutr. Dev.** 42, 381–392.

Kershaw, C.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Ingram, K., Leethongdee, S., Wax, G., Scaramuzzi, R.J., 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. **Theriogenology**. 64,1225–1235.

Killen, I.D., Caffery, G.J., 1982. Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. **Aust. Vet. J.** 59, 95.

Ivanka, B. R. C. et al., 2009. A preliminary study on the suitability of Cervidil to induce cervical dilation for artificial insemination in ewes. **Res. in Vet. Sci.** 87, 204–206.

McDowell, R.E., 1974. Bases biológicas de la producción animal em zonas tropicales. Zaragoza: Acribia.

Morand-Fehr, P., Hervieu, J., 1999. Apprécier l'état corporel des chèvres: Intérêt et méthod. **Reu. La Che.** 231, 22-34.

Neiva, J.N.M., Teixeira, M., Turco, S.H.N., Oliveira, S.M.P., Moura, A.A.A.N., 2004. Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do nordeste do Brasil. **R. Bras. Zootec.** 33, 668-678.

Oliveira, F.M.M., Dantas, R.T., Furtado, D.A. Nascimento, J.W.D., Medeiros, A.N., 2005. Parâmetros de conforto térmico e fisiológico de ovinos Santa Inês, sob diferentes sistemas de acondicionamento. **R. Bras. de Eng. Agr. e Amb.** 9, 631-635.

Pereira, D.A. e Marques, J.A., 2009. Uso de morfina, xilazina e meloxicam para o controle da dor pós-operatória em cadelas submetidas à ovariosalpingo-histerectomia. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 61, 353-361.

Rabassa, V.R., Tabeleão, V.C., Pfeifer, L.F.M., Schneider, A., Ziguer, E.A., Schossler, E., Severo, N.C., Del Pino, F.A.B., Corrêa, M.N., 2007. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo-fixo. **Ciência An. Bras.** 8, 127-133.

Reece, W.O., 1996. Fisiologia de animais domésticos. Ed. Roca, São Paulo.

Santos, D.F., Santos, D.C., Conceição, J.C., Carvalho, A.L.C., Lisboa, M.L.O., 2009. Taxa de gestação em fêmeas Santa Inês inseminadas pela via transcervical com sêmen fresco associada ou não à anestesia epidural. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** 10, 224-230.

Santos, J.R.S., Souza, B.B., Souza, W.H., Cezar, M.F., Tavares, G.P., 2006. Respostas fisiológicas e gradientes termicos de ovinos das raças Santa Inês, morada nova e de seus cruzamentos com a raça Dorper às condições do semi-árido nordestino. **Ciênc. agrotec.** 30, 995-1001.

Sayre, B.; Lewis, G., 1996. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. **Theriogenology**, 45, 1523–1533.

Siqueira, A.P., Fonseca, J.F., Silva Filho, J.M., Bruschi, J.H., Viana, J.H.M., Palhares, M.S., Bruschi, M.C.M., Peixoto, M.P., 2009. Parâmetros reprodutivos de cabras Toggenburg inseminadas com sêmen resfriado, após diluição em meio à base de gema de ovo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 61, 299-305.

Swenson, M.J., Reece, W.O., 1996. Dukes fisiologia dos animais domésticos. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Taqueda, G.S., Azevedo, H.C., Santos, E.M., Matos, J.E., Bittencourt, R.F., Bicudo, S.D., 2011. Influência de aspectos técnicos e anatômicos nos índices de fertilidade baseado no desempenho da inseminação artificial transcervical em ovinos. **Ars vet.** 27, 127-133.

Traldi, A.S., 2006. Biotécnicas aplicadas em reprodução de pequenos ruminantes. III Feinco, São Paulo.

Wulster-Radcliffe, M. C.; Costine, B. A.; Lewis, G. S., 1999. Estradiol-17 betaoxytocin- induced cervical dilation in sheep: Application to transcervical embryo transfer. **J. of Ani. Sci.** 77, 2587-2593

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inseminação artificial por laparoscopia é o método mais eficiente em ovelhas Santa Inês, com base na taxa de gestação e rapidez de execução da técnica.

A utilização dos dilatadores cervicais testados no presente estudo, em inseminações artificiais transcervicais em ovelhas Santa Inês, por não melhorar a transposição cervical e os resultados obtidos de taxa de gestação, não é recomendada.

A inseminação artificial por laparoscopia e transcervical com e sem aplicação prévia de dilatadores cervicais produzem o mesmo nível de estresse.